饲粮豆粕水平与β-甘露聚糖酶对断奶仔猪血清半乳甘露聚糖含量、生化指标及肠道氨基酸转运载体基因表达的影响

朱晓彤[1] 张方亮[1] 尹 杰[2] 黎育颖[2] 韩 慧[2] 宾石玉[1*] 李铁军[2,3*] 印遇龙[2,3]

（1.广西师范大学生命科学学院，桂林 541004；2.中国科学院亚热带农业生态研究所，亚热带农业生态过程重点实验室，湖南省畜禽健康养殖工程技术研究中心，农业部中南动物营养与饲料科学观测实验站，长沙 410125；3.湖南畜禽安全生产协同创新中心，长沙 410128）

摘 要：本试验在分析了 22 种饲料原料中α-半乳甘露聚糖(α-GM)、β-半乳甘露聚糖(β-GM)和半乳甘露聚糖(GM)含量的基础上，研究了饲粮豆粕水平与β-甘露聚糖酶(β-MN)对断奶仔猪血清α-GM、β-GM、GM 含量，血清生化指标，以及肠道溶质载体家族 7 成员 1(*SLC7A1*)、溶质载体家族 7 成员 11(*SLC7A11*)、溶质载体家族 38 成员 2(*SLC38A2*)基因相对表达量的影响。试验采用 2×2 因子设计，将 24 头初始体重接近的健康二元杂交断奶仔猪随机分为 4 组（I、II、III、IV组），每组 6 个重复，每个重复 1 头猪。I组饲喂 22%豆粕水平饲粮，II组饲喂 22%豆粕水平并添加 0.02% β-MN 的饲粮，III组饲喂 37%豆粕水平饲粮，IV组饲喂 37%豆粕水平并添加 0.02% β-MN 的饲粮。试验期为 30 d。在第 30 天对 24 头仔猪进行颈动脉、肠系膜静脉以及肝门静脉采血 10 mL，检测血清中α-GM、β-GM 和 GM 含量；对前腔静脉采血 10 mL，检测血清生化指标；并取空肠前端和回肠后端，检测 *SLC7A1*、*SLC7A11*、*SLC38A2* 基因相对表达量。结果表明：与I组相比，III组断奶仔猪平均日采食量(ADFI)和回肠 *SLC7A1* 基因相对表达量均显著降低（$P<0.05$），III组断奶仔猪平均日采食α-GM 含量，颈动脉血清β-GM 含量，肠系膜静脉血清β-GM、GM 含量，前腔静脉血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性

收稿日期：2017-11-02
基金项目：国家 973 计划课题（2013CB127301）；礼来动物保健基金（ELACN150334）
作者简介：朱晓彤（1994—），女，安徽淮北人，硕士研究生，研究方向为动物学。E-mail: zhuxt826@qq.com
*通信作者：宾石玉，教授，硕士生导师，E-mail: binsy@mailbox.gxnu.edu.cn；李铁军，研究员，博士生导师，E-mail: tjli@isa.ac.cn

和尿素氮含量均显著升高（$P<0.05$）；Ⅱ组断奶仔猪肠系膜静脉血清α-GM 含量及肝门静脉血清α-GM 和 GM 含量均显著降低（$P<0.05$），前腔静脉血清葡萄糖、钙和高密度脂蛋白含量均显著升高（$P<0.05$）。与Ⅲ组相比，Ⅳ组断奶仔猪肝门静脉血清 GM 含量显著降低（$P<0.05$），空肠 *SLC7A1*、*SLC7A11* 和 *SLC38A2* 基因相对表达量均显著升高（$P<0.05$）。由此可见，仔猪平均日采食α-GM 的含量升高，可降低仔猪 ADFI；肝门静脉、颈动脉和肠系膜静脉血清α-GM、β-GM 和 GM 含量随饲粮α-GM、β-GM 和 GM 含量的增加而增加。饲粮α-GM、β-GM 和 GM 含量增加时，添加β-MN 可降低肝门静脉血清 GM 含量，上调空肠 *SLC7A1*、*SLC7A11* 和 *SLC38A2* 基因相对表达量。

关键词：β-甘露聚糖酶；半乳甘露聚糖；豆粕；氨基酸转运载体；生化指标；断奶仔猪

中图分类号：S828　　　　文献标识码：　　　　文章编号：

半乳甘露聚糖(galactomannan,GM)多为豆科植物多糖，是植物中常见主要碳水化合物储备方式[1-2]。GM 属于甘露聚糖最复杂的亚科，α-半乳甘露聚糖(α-galactomannan,α-GM)和β-半乳甘露聚糖(β-galactomannan,β-GM)是 GM 的重要组成部分[3]，其均由β-1,4 糖苷键连接[4]。饲粮中植物细胞壁存储的大量 GM 不能被单胃动物消化，因为单胃动物肠道中缺乏靶向β-1,4 糖苷键的必需酶[5]。对于动物而言，饲粮中大量的存在 GM 可阻碍其对细胞内营养物质的吸收，导致营养利用率降低[6]，甚至大大增加肺曲霉病发生的可能[7]。β-甘露聚糖酶(β-mannanase,β-MN)可以将 GM 的β-1,4 糖苷键从植物细胞壁中分解，使其成为甘露寡糖等小分子[8]，有效减少饲粮中的α-GM、β-GM 和 GM 含量，从而提高饲粮营养物质利用效率，改善动物健康，有利于养殖业可持续发展。

鉴定生物系统中血清生化指标可以反映猪的炎症程度[9-10]。饲粮添加β-MN 可显著降低仔猪血清乳酸脱氢酶、肌酸激酶活性，一定程度上缓和了仔猪的断乳应激[11]。饲粮添加β-MN 可以改善仔猪生长性能，提高饲粮利用效率[12]，还可增加机体氨基酸消化系数，促进氨基酸的吸收[13]，当体内氨基酸吸收变化时，哺乳动物细胞氨基酸基因的表达也变化[14]。尽管饲

粮中添加β-MN 可调控生猪生长性能和生理机能，但β-MN 对断奶仔猪血清α-GM、β-GM 和 GM 含量和生化指标以及肠道中氨基酸转运载体的表达的影响还没有系统的研究。

植物饲料原料中 GM 对动物生理机能具有不利影响，但饲料原料中 GM 的含量却鲜有报道，本试验检测了饲料原料中的α-GM、β-GM 和 GM 的含量，并通过过量添加豆粕(soybean meal,SBM)提高了α-GM、β-GM 和 GM 含量后，在饲粮中添加β-MN，研究β-MN 在饲粮增加α-GM、β-GM 和 GM 含量后，断奶仔猪肠系膜静脉、肝门静脉、颈动脉血中血清α-GM、β-GM 和 GM 含量，血清生化指标以及肠道溶质载体家族 7 成员 1(*SLC7A1*)、溶质载体家族 7 成员 11(*SLC7A11*)、溶质载体家族 38 成员 2(*SLC38A2*)基因相对表达量的影响，探讨了β-MN 对α-GM、β-GM 和 GM 的作用效应，为β-MN 对 GM 的作用机理研究提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

β-MN 购自美国 Elanco 公司，活性为 360 MU/kg。选取 24 头 21 日龄健康二元杂交断奶阉公仔猪，预饲 6 d，初始体重为(9.00±1.17) kg 时，按照 2×2 因子设计，采用完全随机的方法将仔猪分为 4 组（I、II、III、IV组），每组 6 个重复，每个重复 1 头猪，单栏饲养。各组分别饲喂 4 种试验饲粮。I组饲喂 22% SBM 水平饲粮，II组饲喂 22% SBM 水平并添加 0.02% β-MN 的饲粮，III组饲喂 37% SBM 水平饲粮，IV组饲喂 37% SBM 水平并添加 0.02% β-MN 的饲粮。饲粮参照 NRC（2012）仔猪营养需要配制，并根据 SBM 水平调节试验饲粮的α-GM、β-GM 和 GM 含量。饲粮制成颗粒料，所有饲粮消化能一致，其组成及营养水平见表 1。

表 1 试验饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of experiment diets (air-dry basis) %

项目 Items	组别 Groups			
	I	II	III	IV
原料 Ingredients				
玉米 Corn	61.86	61.86	47.12	47.12
豆粕 Soybean meal	22.00	22.00	37.26	37.26
葡萄糖 Glucose	5.00	5.00	5.00	5.00

鱼粉 Fish meal	5.00	5.00	5.00	5.00
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	2.50	2.50	2.36	2.36
豆油 Soybean oil	0.74	0.74	1.27	1.27
预混料 Premix[1)]	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化钠 NaCl	0.30	0.30	0.30	0.30
氧化锌 ZnO	0.30	0.30	0.30	0.30
氯化胆碱 Choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20
β-甘露聚糖酶 β-MN		0.02		0.02
多维 Multi-vitamin[2)]	0.02	0.02	0.02	0.02
麦饭石 Maifanite	0.02		0.02	
抗氧化剂 Antioxidant	0.05	0.05	0.05	0.05
赖氨酸 Lys	0.48	0.48		
蛋氨酸 Met	0.22	0.22	0.10	0.10
苏氨酸 Thr	0.20	0.20		
色氨酸 Trp	0.06	0.06		
缬氨酸 Val	0.05	0.05		
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[3)]				
粗蛋白质 CP	19.05	19.05	24.03	24.03
消化能 DE/(MJ/kg)	13.39	13.39	13.39	13.39
总磷 TP	0.96	0.96	0.96	0.96
有效磷 AP	0.55	0.55	0.55	0.55
钙 Ca	0.99	0.99	1.00	1.00
赖氨酸 Lys	1.25	1.25	1.25	1.25
苏氨酸 Thr	0.81	0.81	0.81	0.81
蛋氨酸 Met	0.53	0.53	0.53	0.53
α-半乳甘露聚糖 α-GM/(ng/g)	2 110.67	2 110.67	2 613.36	2 613.36
β-半乳甘露聚糖 β-GM/(ng/g)	3 677.63	3 677.63	4 002.86	4 002.86
半乳甘露聚糖 GM/(ng/g)	7 945.84	7 945.84	8 697.45	8 697.45

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：Cu 150 mg，Fe 170 mg，Co 1.9 mg，Mn 80 mg，Zn 77 mg，I 0.3 mg，Se 0.12 mg。

[2)]多维可为每千克饲粮提供 The multi-vitamin provided the following per kg of diets：VA 4 875 IU，VD_3 1 500 IU，VE 12 mg，VK_3 1.5 mg，VB_6 1.8 mg，VB_{12} 15 mg，烟酸 nicotinic 15 mg，*D*-泛酸 *D*-pantothenic acid 7.5 mg。

[3)]营养水平均为计算值。α-GM、β-GM 和 GM 含量是根据表 3 结果，通过玉米和豆粕在试验饲粮中的比例计算得出。Nutrient levels were calculated values. According to the results of

Table 3, the contents of α-GM, β-GM and GM were calculated by the ratio of corn and soybean meal in experimental diets.

1.2 饲养管理

饲养试验在湖南新五丰股份有限公司永安分公司的中国科学院亚热带农业生态研究所动物实验基地进行。试验猪在相同环境下饲养，单栏饲喂，自由饮水和采食，每天饲喂4次（07:00、11:00、14:00、18:00），并记录采食量，自然光照和通风，执行常规免疫程序。预试期6 d，正试期30 d。

本试验程序需要说明的是：鉴于本试验目的是为了研究断奶仔猪高SBM饲粮与β-MN对血清聚糖含量、生化指标及肠道氨基酸转运载体基因表达的影响，为了保障研究的持续性和完整性，在正试期内（30 d），断奶2周后的试验仔猪持续使用添加了高锌（氧化锌）的4种试验饲粮，这仅针对本研究的需要。而有关锌的使用，应按国家相关规定执行。试验结束后，对24头断奶仔猪麻醉采集颈动脉、肠系膜静脉以及肝门静脉血样各10 mL，检测血清中α-GM、β-GM和GM含量；采集前腔静脉血样10 mL，检测血清生化指标；并取空肠前端和回肠后端，检测氨基酸转运载体*SLC7A1*、*SLC7A11*和*SLC38A2*基因相对表达量。在采样结束后，所有试验仔猪已根据国家相关规定进行无公害化处理。

1.3 样本采集

于正式期第30天对24头断奶仔猪进行禁食12 h，注射麻药Zoletil 50（Virbac S.A.公司，法国）后屠宰，先采集颈动脉、前腔静脉血样各10 mL，剖开腹腔，采集肝门静脉以及肠系膜静脉血样各10 mL，血样静置3 h，3 000 r/min、离心10 min制备血清，上清液移入离心管中，置于-80 ℃冰箱中保存。迅速采集空肠前端（2 cm）和回肠后端（2 cm）样品，生理盐水洗净后，锡箔纸包样，并放入液氮中速冻，置于-80 ℃冰箱中保存。

1.4 饲料原料与血清中α-GM、β-GM和GM含量测定

饲料原料与血清中α-GM、β-GM 和 GM 含量的测定采用试剂盒，试剂盒均采购于上海酶联生物科技有限公司，并由上海酶联生物科技有限公司检测。

1.5 平均日采食量(ADFI)及平均日采食α-GM、β-GM 和 GM 含量测定

试验期间记录试验猪的日采食量，计算 1~30 d 的 ADFI，根据采食量及饲粮中α-GM、β-GM 和 GM 含量，计算 1~30 d 平均日采食α-GM、β-GM 和 GM 含量。

1.6 血清生化指标测定

谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)、谷草转氨酶(glutamic oxaloacetic transaminase,GOT)活性及尿素氮(urea nitrogen,UN)、肌酐(creatinine,CREA)、葡萄糖(glucose,GLU)、钙(calcium,Ca)、磷(phosphorus,P)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein,HDL)、补体 C4(complement 4,C4)含量均使用罗氏生化检测试剂盒和 COBAS C311 型罗氏生化自动分析仪（Roche 公司，德国）进行检测。

1.7 氨基酸转运载体基因表达测定

研磨从液氮冷冻的空肠组织，使用 Trizol 试剂（Invitrogen 公司，美国）分离总 RNA，所有样品总 RNA 均稀释至 1 μg/μL。然后根据制造商的说明书用 DNase Ⅰ（Invitrogen 公司，美国）对总 RNA 消化，以去除基因组 DNA 污染。采用上海生物工程有限公司反转录试剂盒对上述 DNA 消化产物进行反转录，获得样品总 RNA 的 cDNA 产物，体系为 20 μL，置于-20 ℃保存备用。根据猪的基因序列（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/）使用 Prime 5.0 设计引物以产生扩增产物，引物由上海生工生物技术有限公司合成，引物序列及参数见表 2。将 1 μL cDNA 模板加入的含有 5 μL SYBR Green Premix (2×，预混 $MgCl_2$、dNTP、SYBR Green Ⅰ染料、EX-Taq 聚合酶、Buffer)，0.4 μmol/L 正向和反向引物各 0.5 μL，去离子水补齐总体积为 10 μL。PCR 循环设置为：1）预热程序，95 ℃、10 s；2）扩增和定量程序，重复 40 个循环（95 ℃、5 s，60 ℃、20 s)；3）熔化曲线程序，60~99 ℃，温度升高速率为 0.1 ℃/s。

反应结束后，分别得到个样品的β-肌动蛋白（β-actin）基因以及各目的基因引物 PCR 扩增的 Ct 值，根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}=2^{-(Ct_{目的基因}-Ct_{\beta\text{-actin}})}$计算基因相对表达量。

表 2　实时定量 PCR 引物序列

Table 2　Primer sequences for real-time PCR

基因 Genes	登录号 Accession No.	引物序列 Primer sequences (5'→3')	产物大小 Production size/bp
溶质载体家族 7 成员 1 *SLC7A1*	XM_021065165.1	F: TCTGGTCCTGGGCTTCATAA R: ACCTTCGTGGCATTGTTCAG	123
溶质载体家族 7 成员 11 *SLC7A11*	XM_021101587.1	F: TGAATGGTGGTGTGTTTGCT R: AGTGTGTTTGCGGATTGAA	101
溶质载体家族 38 成员 2 *SLC38A2*	NM_001112683.1	F: GGTGCCATCAACAAGAAGACG R: CCGATAAAGAACCTGATGAGCC	227
β-肌动蛋白 β-actin	XM_003124280.3	F: CTGCGGCATCCACGAAACT R: AGGGCCGTGATCTCCTTCTG	147

1.8　数据分析

试验数据采用 Excel 2007 进行初步整理，用 SPSS 18.0 统计软件的 GLM 程序进行统计分析，数据模型包括 SBM 和β-MN 以及两者的交互作用对数据结果产生的影响，并采用 Duncan 氏多重比较法以评估各组之间的差异，结果以“平均值±标准误”表示，$P<0.05$ 时为差异显著，$P<0.01$ 时为差异极显著。

2　结　果

2.1　常用植物饲料原料中α-GM、β-GM 和 GM 含量

由表 3 中相关常用植物蛋白质饲料原料和能量饲料原料中α-GM、β-GM 和 GM 含量的实际检测值可知，在 22 种植物饲料原料中，除了发酵豆粕、蚕豆和黑豆外，饲料原料中β-GM 含量均明显高于α-GM 的含量，而 GM 含量则高于α-GM 和β-GM 含量的总和。因此，在饲粮配制过程中需要考虑α-GM、β-GM 和 GM 含量。

表 3　22 种饲粮中常用蛋白质原料和能量原料的α-GM、β-GM 和 GM 含量

Table 3 The contents of α-GM, β-GM and GM in 22 kinds of common protein and energy ingredients in diet ng/g

项目 Items	α-半乳甘露聚糖 α-GM	β-半乳甘露聚糖 β-GM	半乳甘露聚糖 GM
蛋白质原料 Protein ingredients			
豆粕 Soybean meal	4 904.92	5 860.55	12 900.80
膨化豆粕 Extruded soybean meal	2 456.24	4 446.39	7 534.67
发酵豆粕 Fermented soybean meal	4 791.49	3 671.04	7 734.65
棉籽粕 Cottonseed meal	3 223.26	4 457.97	12 695.26
菜籽粕 Rapeseed meal	2 846.95	5 619.85	12 511.95
大豆 Soybean	2 780.33	5 085.20	10 745.46
绿豆 Mung bean	4 730.27	7 610.32	12 589.72
红豆 Azuki bean	3 298.88	5 094.45	20 688.91
黑豆 Black bean	5 238.04	5 207.87	11 028.96
蚕豆 Broad bean	8 839.02	7 429.79	16 194.91
腰豆 Kidney bean	5 169.60	5 916.10	12 284.19
干酒糟及其可溶物 DDGS	3 716.59	3 944.15	9 523.36
能量原料 Energy ingredients			
玉米 Corn	1 667.62	3 860.83	8 256.82
大麦 Barley	3 311.48	4 772.74	9 178.95
小麦 Wheat	2 571.47	4 786.63	8 662.33
燕麦 Oat	4 285.55	5 696.22	13 422.97
荞麦 Buckwheat	4 926.53	6 050.34	12 411.96
薏米 Pearl barley	4 411.56	7 332.58	1 1489.83
黑米 Black rice	4 175.72	5 888.33	1 0484.37
碎米 Broken rice	2 422.03	3 768.25	1 1362.06
高粱 Sorghum	2 935.18	5 823.52	1 2511.95
麸皮 Wheat bran	3 246.66	5 929.99	1 0451.04

2.2 β-MN 和 SBM 对断奶仔猪 ADFI 及平均日采食α-GM、β-GM 和 GM 含量的影响

由表 4 可知，与I组相比，II组断奶仔猪的 ADFI 以及平均日采食α-GM、β-GM 和 GM 含量没有显著变化（P>0.05）；与III组相比，IV组断奶仔猪的 ADFI 显著提高（P<0.05）；与II组相比，IV组断奶仔猪的平均日采食α-GM 含量显著增加（P<0.05）；与I组相比，III组断奶仔猪 ADFI 显著降低（P<0.05），平均日采食α-GM 含量显著升高（P<0.05），这表明，在不添加β-MN 的情况下，高水平 SBM 饲粮可显著提高仔猪平均日采食α-GM 含量（P<0.01）。

表 4 β-MN 和 SBM 对断奶仔猪 ADFI 及平均日采食α-GM、β-GM 和 GM 含量的影响

Table 4 Effects of β-MN and SBM on ADFI and average daily intake of α-GM, β-GM, GM contents of weaner piglets

项目 Items	Ⅰ组 Group Ⅰ	Ⅱ组 Group Ⅱ	Ⅲ组 Group Ⅲ	Ⅳ组 Group Ⅳ	P 值 P-value 组间 Group	豆粕 SBM	β-甘露聚糖酶 β-MN	互作 Interaction
平均日采食量 ADFI/kg	0.86±0.02[a]	0.86±0.03[a]	0.76±0.04[b]	0.85±0.03[a]	0.04	0.07	0.14	0.09
α-半乳甘露聚糖 α-GM/(μg/d)	1 816.21±39.19[b]	1 801.18±58.68[b]	2 094.61±94.62[a]	2 181.06±101.08[a]	<0.01	<0.01	0.64	0.51
β-半乳甘露聚糖 β-GM/(μg/d)	3 179.63±68.60	3 153.32±102.72	3 068.80±196.55	3 341.73±154.02	0.56	0.37	0.66	0.51
半乳甘露聚糖 GM/(μg/d)	6 869.87±148.22	6 813.02±221.95	6 667.92±427.07	7 259.80±335.55	0.54	0.30	0.66	0.51

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

2.3 β-MN 和 SBM 对断奶仔猪不同部位血清α-GM、β-GM 和 GM 含量的影响

由表 5 可知，在颈动脉血清中，与I组相比，II组血清α-GM 含量降低了 37.70%（$P>0.05$）；与III组相比，IV组血清α-GM 含量降低了 16.90%（$P>0.05$），这表明β-MN 可降低颈动脉血清中α-GM 含量（$P=0.02$）。与I组相比，III组血清β-GM 含量显著升高（$P<0.05$）；与II组相比，IV组血清β-GM 含量显著升高（$P<0.05$），这表明过量添加 SBM 可显著增加仔猪颈动脉血清β-GM 含量（$P<0.01$）。

在肠系膜静脉血清中，与I组相比，II组血清α-GM 含量显著降低（$P<0.05$），表明β-MN 可降低肠系膜静脉血清中α-GM 含量（$P=0.01$）。与I组相比，III组血清β-GM 含量显著升高

（$P<0.05$），血清 GM 含量显著升高（$P<0.05$）；与II组相比，IV组血清α-GM 和β-GM 含量均显著增加（$P<0.05$），这表明过量添加 SBM 可显著增加仔猪肠系膜静脉血清中α-GM（$P=0.04$）、β-GM（$P<0.001$）和 GM 含量（$P<0.01$）。

在肝门静脉血清中，与I组相比，II组血清α-GM 和 GM 含量均显著降低（$P<0.05$）；与III组相比，IV组血清 GM 含量显著降低（$P<0.05$），这表明β-MN 可降低肝门静脉血清中α-GM（$P=0.02$）GM 含量（$P<0.01$）。与I组相比，III组血清β-GM 含量升高了 40.24%（$P>0.05$）；与II组相比，IV组血清α-GM 含量显著升高（$P<0.05$），这表明过量添加 SBM 可显著增加仔猪肝门静脉血清中α-GM（$P=0.03$）和β-GM（$P=0.02$）含量。

表 5　β-MN 和 SBM 对断奶仔猪血清α-GM、β-GM 和 GM 含量的影响

Table 5　Effects of β-MN and SBM on contents of α-GM, β-GM and GM in serum of weaner piglets　　ng/mL

项目 Items	I 组 Group Ⅰ	II 组 Group Ⅱ	III组 Group Ⅲ	Ⅳ组 Group Ⅳ	P 值 P-value: 组间 Group	豆粕 SBM	β-甘露聚糖酶 β-MN	互作 Interaction
颈动脉 Carotid artery								
α-半乳甘露聚糖 α-GM	131.29±8.98	81.79±8.21	137.45±17.85	114.22±18.70	0.06	0.05	0.02	0.34
β-半乳甘露聚糖 β-GM	157.88±8.98[bc]	126.09±4.19[c]	211.65±15.79[a]	188.76±21.16[ab]	<0.01	<0.01	0.05	0.97
半乳甘露聚糖 GM	327.83±38.68	300.93±26.04	383.69±56.79	355.12±53.30	0.59	0.09	0.89	0.71
肠系膜静脉 Mesenteric vein								
α-半乳甘露聚糖 α-GM	145.68±6.82[a]	90.82±7.65[b]	173.52±16.60[a]	146.17±26.82[a]	0.01	0.04	0.01	0.62

β-半乳甘露聚糖 β-GM	199.60±12.79[bc]	171.27±9.61[c]	247.39±11.26[a]	221.13±15.15[ab]	<0.01	<0.01	0.06	0.97
半乳甘露聚糖 GM	393.74±35.14[b]	349.10±44.94[b]	557.49±54.82[a]	472.50±51.92[ab]	0.03	<0.01	0.40	0.78
肝门静脉 Hepatic portal vein								
α-半乳甘露聚糖 α-GM	122.23±13.95[a]	70.49±5.87[b]	131.54±13.97[a]	119.76±13.77[a]	0.01	0.03	0.02	0.12
β-半乳甘露聚糖 β-GM	175.26±17.79	171.12±13.80	245.78±29.22	204.97±21.61	0.08	0.02	0.30	0.41
半乳甘露聚糖 GM	368.94±12.60[ab]	264.82±12.86[c]	405.27±41.69[a]	313.94±30.29[bc]	<0.01	0.19	<0.01	0.64

2.4 β-MN 对断奶仔猪前腔静脉血清生化指标的影响

由表 6 可知，在前腔静脉血清中，与I组相比，II组血清 GLU、Ca 和 HDL 含量均显著升高（*P*<0.05），且II组比I组血清 P 含量升高了 32.47%（*P*>0.05），这表明β-MN 可显著增加前腔静脉血清 GLU（*P*<0.01）、Ca（*P*<0.01）、P（*P*=0.02）和 HDL（*P*<0.01）含量。

与I组相比，III组血清 ALT、GOT 活性和 UN 含量均显著升高（*P*<0.05）；与II组相比，IV组血清 GOT 活性显著升高（*P*<0.05），血清 GLU 含量显著降低（*P*<0.05），这表明过量添加 SBM 可显著增加前腔静脉血清 ALT（*P*<0.01）、GOT（*P*=0.01）活性及 UN（*P*<0.01）含量，显著降低血清 GLU 含量（*P*<0.01）。

表 6 β-MN 和 SBM 对断奶仔猪血清生化指标的影响

Table 6 Effects of β-MN and SBM on serum biochemical indices of weaner piglets

项目 Items	I 组 Group I	II 组 Group II	III组 Group III	IV组 Group IV	*P* 值 *P*-value 组间 Group	豆粕 SBM	β-甘露聚糖酶 β-MN	互作 Interaction
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	37.46±4.09[b]	37.36±5.33[b]	62.04±8.10[a]	51.92±6.29[ab]	0.03	<0.01	0.42	0.43
谷草转氨酶 GOT/(U/L)	36.88±2.10[bc]	31.00±2.41[c]	53.60±6.01[a]	49.60±5.86[ab]	<0.01	0.01	0.26	0.89
尿素氮	4.46±0.45[b]	3.92±0.25[b]	5.88±0.48[a]	5.10±0.49[ab]	0.03	<0.01	0.14	0.78

UN/(mmol/L)								
肌酐 CREA/(μmol/L)	56.60±9.77	53.80±4.76	72.60±4.57	60.20±7.05	0.26	0.12	0.29	0.50
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	4.84±0.20^{b}	6.08±0.37^{a}	3.88±0.45^{b}	4.92±0.30^{b}	<0.01	<0.01	<0.01	0.77
钙 Ca/(mmol/L)	1.89±0.22^{b}	2.67±0.05^{a}	1.98±0.17^{b}	2.36±0.26^{ab}	0.04	0.57	<0.01	0.32
磷 P/(mmol/L)	2.31±0.32	3.06±0.04	2.47±0.16	2.81±0.22	0.09	0.82	0.02	0.34
高密度脂蛋白 HDL/(mmol/L)	0.60±0.08^{b}	1.07±0.06^{a}	0.86±0.08^{ab}	0.98±0.14^{a}	0.02	0.40	<0.01	0.08
补体 4 C4/(g/L)	0.034±0.002	0.036±0.005	0.026±0.002	0.038±0.005	0.19	0.46	0.09	0.22

2.5 β-MN 对断奶仔猪空肠和回肠氨基酸转运载体基因表达的影响

由表 7 可知，与I组相比，II组空肠 *SLC7A*11 基因相对表达量显著升高（*P*<0.05）；与III组相比，IV组空肠 *SLC7A*1、*SLC7A*11 和 *SLC*38*A*2 基因相对表达量均显著升高（*P*<0.05）。这表明β-MN 可增加空肠氨基酸转运载体 *SLC7A*1（*P*=0.03）、*SLC7A*11（*P*<0.01）和 *SLC*38*A*2（*P*=0.01）基因相对表达量。

与I组相比，III组回肠 *SLC7A*1 基因相对表达量显著降低（*P*<0.05），这表明过量添加 SBM 可以显著降低回肠氨基酸转运载体 *SLC7A*1 基因相对表达量（*P*=0.01）。

表 7　β-MN 和 SBM 对断奶仔猪肠道中 *SLC7A*11、*SLC7A*1 和 *SLC*38*A*2 相对表达量的影响

Table 7　Effects of β-MN and SBM on gene relative expressions of *SLC7A*11, *SLC7A*1 and *SLC*38*A*2 in intestine of weaner piglets

项目 Items	I 组 Group Ⅰ	II 组 Group Ⅱ	III组 Group Ⅲ	Ⅳ组 Group Ⅳ	*P* 值 *P*-value			
					组间 Group	豆粕 SBM	β-甘露聚糖酶 β-MN	互作 Interaction
空肠 Jejunum								
溶质载体家族 7 成员 1 *SLC7A*1	1.00±0.13^{ab}	1.52±0.22^{a}	0.71±0.19^{b}	1.42±0.27^{a}	0.04	0.43	0.03	0.59
溶质载体家族 7 成员 11	1.00±0.17^{b}	1.50±0.09^{a}	0.88±0.10^{b}	1.46±0.11^{a}	<0.01	0.73	<0.01	0.63

SLC7A11								
溶质载体家族38成员2 *SLC38A2*	1.00±0.27[ab]	1.40±0.32[a]	0.53±0.08[b]	1.70±0.29[a]	0.02	0.58	0.01	0.20
回肠 Ileum								
溶质载体家族7成员1 *SLC7A1*	1.00±0.13[a]	1.19±0.15[ab]	0.54±0.15[b]	0.80±0.10[ab]	0.02	0.01	0.16	0.66
溶质载体家族7成员11 *SLC7A11*	1.00±0.12	0.86±0.20	1.02±0.20	1.54±0.35	0.21	0.11	0.28	0.13
溶质载体家族38成员2 *SLC38A2*	1.00±0.14	1.31±0.14	1.04±0.25	1.20±0.22	0.80	0.54	0.23	0.42

3 讨 论

植物性饲料原料中GM含量过多会造成胃肠道功能下降，增加肠道食糜黏度，降低饲料利用率[15]，对动物生理机能有害。本研究检测了常见饲料原料中α-GM、β-GM和GM含量，并发现大部分饲料原料中β-GM含量明显高于α-GM，且GM含量高于α-GM与β-GM含量总和，说明GM亚科中还含有其他分支的多聚糖。

在仔猪饲粮中添加GM可以降低仔猪肠道绒毛高度和乳酸杆菌数量[16]，从而降低仔猪饲粮营养利用率。在本试验中，饲粮SBM水平由22%增加至37%后，仔猪采食量下降，而α-GM的采食量却显著增加，这可能是α-GM导致采食量下降的因素。GM是菌丝组织生长期间从细胞壁释放的热稳定多糖成分，对曲霉菌的存活是必需的[17]。因此，仔猪采食过量GM，可导致曲霉肺炎等疾病的风险，严重危害仔猪健康。本研究通过检测不同部位血清GM含量，从而明确了该部位对GM的吸收状况。饲粮SBM水平由22%增加至37%后，仔猪颈动脉和肠系膜静脉血清中β-GM含量均显著增加，什么影响仔猪生理变化的主要因素可能是β-GM。有研究报道，GM可使胃肠道功能下降，增加肠道食糜黏度[15]，本试验饲粮SBM

水平增加使肠系膜静脉中血清α-GM、β-GM 和 GM 含量均显著升高，改变了 GM 在肠道中的平衡，这可能是仔猪肠道生理功能改变的原因，但具体原因尚需进一步分析。肝脏属于先天免疫系统[18]，而在肝门静脉中，饲粮 22%的 SBM 水平并添加β-MN 后，血清α-GM 和 GM 含量均显著降低，我们推测β-MN 可通过降低肝门静脉血清中 GM 的含量来提高机体免疫能力。

血清生化指标对致病过程或治疗干预的药物反应具有指示性作用[19]。在试验动物模型中，肝损伤可以通过血清 ALT 和 GOT 活性来估计，血清 ALT 和 GOT 活性升高表明严重的肝细胞损伤或坏死[20-21]，而血清 UN 含量的升高通常是由于肾脏损伤造成的小球滤过率降低[22]。本研究表明，饲粮 SBM 水平由 22%增加至 37%后，血清 ALT、GOT 活性及 UN 含量均显著增加，提示 SBM 可破坏仔猪生理生化平衡，增加疾病风险。血清 GLU 和 Ca 含量反映了猪的能量状况[23]和骨对 Ca 的吸收状况[24]; HDL 可通过将肝外组织中过多的胆固醇进行代谢，防止胆固醇在这些组织中过多地聚集，促进机体健康[25]。本研究表明，饲粮 22%的 SBM 水平并添加β-MN 后，可显著增加血清 GLU、Ca、HDL 含量，提示β-MN 可以提高仔猪能量利用率，促进仔猪骨对 Ca 的吸收和保持体内胆固醇平衡。

β-MN 可以将 SBM 中 GM 降解为半乳甘露寡糖小分子，半乳甘露寡糖具有消除抗营养物质、提高饲粮消化率、促进氨基酸等营养物质的吸收等特点[4]。氨基酸转运载体可通过偶联转运过程调节细胞内氨基酸浓度和细胞内氨基酸受体的下游信号，将氨基酸等营养信息以及营养物质本身转移到细胞需要的位置[26]。*SLC7A1* 用于在哺乳动物细胞碱性氨基酸（精氨酸和赖氨酸）摄取和转运，其中 *SLC7A1* 的相对表达量上调，细胞内碱性氨基酸（精氨酸和赖氨酸）浓度也会随之上调[27-28]。*SLC7A11* 属于溶质转运蛋白基因家族，编码胱氨酸/谷氨酸转运体 xCT[29]，上调 *SLC7A11* 可促进谷氨酸的吸收[30]。*SLC38A2* 维持细胞内 *L*-谷氨酰胺含量并作用中性氨基酸转运入细胞[31]。*SLC38A2* 的相对表达量越高，其组织中中性氨基酸浓度越高[32]。本试验结果表明，在 37% SBM 水平饲粮中添加β-MN，空肠 *SLC7A1*、*SLC7A11*

和 *SLC*38*A*2 相对表达量均显著升高。这可能是由于β-MN 通过破坏肠系膜静脉中过量 GM 的β-1,4 糖苷键，从而促进了空肠中 *SLC*7*A*1、*SLC*7*A*11 和 *SLC*38*A*2 相对表达量的增加。饲粮 SBM 水平由 22%增加至 37%时，回肠中 *SLC*7*A*1 的相对表达量降低，提示 SBM 可通过降低 *SLC*7*A*1 的相对表达量降低仔猪肠道对碱性氨基酸（精氨酸和赖氨酸）的吸收。

4 结 论

① 在大部分常用饲料原料中，β-GM 含量比α-GM 的含量高。

② 断奶仔猪平均日采食α-GM 含量增加时，ADFI 会随之降低。

③ 饲粮中α-GM、β-GM 和 GM 含量增加时，断奶仔猪肝门静脉、颈动脉和肠系膜静脉血清α-GM、β-GM 和 GM 含量也会增加。

④ 饲粮添加β-MN 可以降低断奶仔猪血清α-GM、β-GM 和 GM 含量，同时增加了前腔静脉血清 GLU、Ca、P 和 UN 含量，提高了空肠 *SLC*7*A*1、*SLC*7*A*11、*SLC*38*A*2 的相对表达量。

参考文献：

[1] JOËT T,LAFFARGUE A,SALMONA J,et al.Regulation of galactomannan biosynthesis in coffee seeds[J].Journal of Experimental Botany,2014,65(1):323–337.

[2] PEREIRA-NETTO A B,MENEGUIN R G,BIZ A,et al.A galactomannan-driven enhancement of the *in vitro* multiplication rate for the Marubakaido apple rootstock (*Malus prunifolia*(Willd) Borkh) is not related to the degradation of the exogenous galactomannan[J].Applied Biochemistry and Biotechnology,2012,166(1):197–207.

[3] VAN ZYL W H,ROSE S H,TROLLOPE K,et al.Fungal β-mannanases:mannan hydrolysis,heterologous production and biotechnological applications[J].Process Biochemistry,2010,45(8):1203–1213.

[4] MALGAS S,VAN DYK J S,PLETSCHKE B I.A review of the enzymatic hydrolysis of

mannans and synergistic interactions between β-mannanase,β-mannosidase and α-galactosidase[J].World Journal of Microbiology and Biotechnology,2015,31(8):1167–1175.

[5] LV J N,CHEN Y Q,GUO X J,et al.Effects of supplementation of beta-mannanase in corn-soybean meal diets on performance and nutrient digestibility in growing pigs[J].Asian-Australasian Journal of Animal Science,2013,26(4):579–587.

[6] SONG Y S,PÉREZ V G,PETTIGREW J E,et al.Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma[J].Animal Feed Science and Technology,2010,159(1):41–49.

[7] PETRAITIENE R,PETRAITIS V,BACHER J D,et al.Effects of host response and antifungal therapy on serum and BAL levels of galactomannan and (1→3)-β-*D*-glucan in experimental invasive pulmonary aspergillosis[J].Medical Mycology,2015,53(6):558–568.

[8] ZHOU P,LIU Y,YAN Q J,et al.Structural insights into the substrate specificity and transglycosylation activity of a fungal glycoside hydrolase family 5 β-mannosidase[J].Acta Crystallographica Section D,2014,70(11):2970–2982.

[9] METZLER-ZEBELI B U,EBERSPÄCHER E,GRÜLL D,et al.Enzymatically modified starch ameliorates postprandial serum triglycerides and lipid metabolome in growing pigs[J].PLoS One,2015,10(6):e0130553.

[10] KALAI K,NEHETE R S,GANGULY S,et al.Investigation of parasitic and bacterial diseases in pigs with analysis of hematological and serum biochemical profile[J].Journal of Parasitic Diseases,2012,36(1):129–134.

[11] 李学俭.β-甘露聚糖酶对断乳仔猪生产性能的影响及其机理的研究[D].博士学位论文.

沈阳:沈阳农业大学,2008.

[12] 张芹,毛胜勇,朱伟云.β-甘露聚糖酶在动物生产中的应用[J].饲粮研究,2008,40(9):42–44.

[13] FERREIRA H C,Jr,HANNAS M I,ALBINO L F T,et al.Effect of the addition of β-mannanase on the performance,metabolizable energy,amino acid digestibility coefficients,and immune functions of broilers fed different nutritional levels[J].Poultry Science,2016,95(8):1848–1857.

[14] FOTIADIS D,KANAI Y,PALACÍN M.The *SLC*3 and *SLC*7 families of amino acid transporters[J].Molecular Aspects of Medicine,2013,34(2/3):139–158.

[15] MUSSINI F J,COTO C A,GOODGAME S D,et al.Effect of ß-mannanase on broiler performance and dry matter output using corn-soybean meal based diets[J].International Journal of Poultry Science,2011,10(10):778–781.

[16] VAN NEVEL C J,DECUYPERE J A,DIERICK N A,et al.Incorporation of galactomannans in the diet of newly weaned piglets:effect on bacteriological and some morphological characteristics of the small intestine[J].Archives of Animal Nutrition,2005,59(2):123–138.

[17] HORIE M,TAMIYA H,GOTO Y,et al.Nonspecific elevation of serum *Aspergillus* galactomannan antigen levels in patients with rheumatoid arthritis[J].Respiratory Investigation,2016,54(1):44–49.

[18] WICK M J,LEITHÄUSER F,REIMANN J.The hepatic immune system[J].Critical Reviews in Immunology,2002,22(1):47–103.

[19] VAN SPIL W E,DE GROOT J,LEMS W F,et al.Serum and urinary biochemical markers for knee and hip osteoarthritis:a systematic review applying the consensus biped criteria[J].Osteoarthritis & Cartilage,2010,18(5):605–612.

[20] VATSALYA V,AVILA D,FRIMODIG J C,et al.Liver injury assessment by vetscan vs 2

analyzer and most frequently used ALT/GTP reagent[J].Gastroenterology & Hepatology,2016,4(4):107.

[21] 郭艳梅,郭传勇.血清谷草转氨酶极度升高的临床研究[J].卫生职业教育,2012,30(11):154–155.

[22] ERÇIN C N,DOĞRU T,ÇELEBI G,et al.The relationship between blood urea nitrogen levels and metabolic,biochemical,and histopathologic findings of nondiabetic,nonhypertensive patients with nonalcoholic fatty liver disease[J].Turkish Journal of Medical Sciences,2016,46(4):985–991.

[23] KANENGONI A T,CHIMONYO M,ERLWANGER K H,et al.Growth performance,blood metabolic responses,and carcass characteristics of grower and finisher South African Windsnyer-type indigenous and large white×landrace crossbred pigs fed diets containing ensiled corncobs[J].Journal of Animal Science,2014,92(12):5739–5748.

[24] LIEBEN L,VERLINDEN L,MASUYAMA R,et al.Extra-intestinal calcium handling contributes to normal serum calcium levels when intestinal calcium absorption is suboptimal[J].Bone,2015,81:502–512.

[25] 王柏辉,杨蕾,罗玉龙,等.不同饲养方式对苏尼特羊肠道菌群与脂肪酸代谢的影响[EB/OL].(2018-10-20)[2017-08-01].http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20170802.1547.022.html

[26] HUNDAL H S,TAYLOR P M.Amino acid transceptors:gate keepers of nutrient exchange and regulators of nutrient signaling[J].American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism,2009,296(4):E603–E613.

[27] MÄÄTTÄ K,KUNNAS T,NIKKARI S T.Contribution of *SLC7A1* genetic variant to hypertension,the TAMRISK study[J].BMC Medical Genetics,2013,14:69.

[28] YIN J,REN W K,DUAN J L,et al.Dietary arginine supplementation enhances intestinal expression of *SLC7A7* and *SLC7A1* and ameliorates growth depression in mycotoxin-challenged pigs[J].Amino Acids,2014,46(4):883–892.

[29] LI H T,HE X,ZHOU Z Y,et al.Expression levels of *SlC7A11* in the skin of kazakh sheep with different coat colors[J].Hereditas,2012,34(10):1314–1319.

[30] PLOESSL K,WANG L,LIEBERMAN B P,et al.Comparative evaluation of 18F-labeled glutamic acid and glutamine as tumor metabolic imaging agents[J].Journal of Nuclear Medicine Official Publication Society of Nuclear Medicine,2012,53(10):1616–1624.

[31] TANAKA K,YAMAMOTO A,FUJITA T.Functional expression and adaptive regulation of Na^+-dependent neutral amino acid transporter *SNAT2*/*ATA2* in normal human astrocytes under amino acid starved condition[J].Neuroscience Letters,2005,378(2):70–75.

[32] PALII S S,THIAVILLE M M,PAN Y X,et al.Characterization of the amino acid response element within the human sodium-coupled neutral amino acid transporter 2 (*SNAT2*) system a transporter gene[J].Biochemical Journal,2006,395(3):517–527.

Effects of Dietary Soybean Meal Level and β-Mannanase on Serum Galactomannan Content, Biochemical Indices and Intestinal Amino Acid Transporters Gene Expression of Weaner Piglets*

ZHU Xiaotong[1] ZHANG Fangliang[1] YIN Jie[2] LI Yuying[2] HAN Hui[2] BIN Shiyu[1*] LI Tiejun[2,3*] YIN Yulong[2,3]

(1. *College of Life Science*, *Guangxi Normal University*, *Guilin* 541004, *China*; 2. *Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region*, *Institute of Subtropical Agriculture*, *Chinese*

*Corresponding authors: BIN Shiyu, professor, E-mail: binsy@mailbox.gxnu.edu.cn; LI Tiejun, professor, E-mail: tjli@isa.ac.cn （责任编辑　武海龙）

Academy of Sciences; National Engineering Laboratory for Pollution Control and Waste Utilization in Livestock and Poultry Production, *Hunan Provincial Engineering Research Center for Healthy Livestock and Poultry Production*, *Scientific Observing and Experimental Station of Animal Nutrition and Feed Science in South-Central*, *Ministry of Agriculture*, *Changsha* 410125, *China*; 3. *Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety*, *Changsha* 410128, *China*)

Abstract: According to the analysis of α-galactomannan (α-GM), β-galactomannan (β-GM) and galactomannan (GM) contents in 22 kinds of feed ingredients, this study evaluated the effect of β-mannanase (β-MN) on the contents of α-GM, β-GM and GM in serum, serum biochemical indices, and the gene relative expression of solute carrier family 7 member 1 (*SLC*7*A*1), solute carrier family 7 member 11 (*SLC*7*A*11) and solute carrier family 38 member 2 (*SLC*38*A*2) of weaner piglets. Twenty-four healthy dualistic hybrid weaner piglets with similar body weight were randomly divided into 4 groups (groups I, II, III and IV) with 6 replicates per group and 1 pig per replicate in a 2×2 factorial design. Piglets in group I fed the 22% soybean meal (SBM) level diet, piglets in group II fed the 22% SBM level diet supplemented with 0.02% β-MN, piglets in group Ⅲ fed the 37% SBM level diet, and the others in group IV fed the 37% SBM level diet supplemented with 0.02% β-MN. The experiment lasted for 30 days. At day 30, 10 mL blood samples from carotid artery, mesenteric vein and portal vein were collected from 24 piglets for serum α-GM, β-GM and GM contents determination, respectively; 10 mL blood from precaval vein used for serum biochemical indices analysis. The proximal jejunum and distal ileum samples were collected for analysis gene relative expression of *SLC*7*A*1, *SLC*7*A*11 and *SLC*38*A*2. The results showed that compared with group Ⅰ, the average daily feed intake (ADFI) and *SLC*7*A*1 gene relative expression in ileum of weaner piglets in group III were significantly decreased (P<0.05), the average daily intake of α-GM content, the content of β-GM in carotid artery serum,

the contents of β-GM and GM in mesenteric vein serum, the alanine aminotransferase, glutamic oxaloacetic transaminaseand activities and urea nitrogen content in precaval vein serum of weaner piglets in group Ⅲ were significantly increased ($P<0.05$); the content of α-GM in mesenteric vein serum, the contents of α-GM and GM in portal vein serum of weaner piglets in group II were significantly decreased ($P<0.05$), the contents of glucose, calcium and high density lipoprotein in precaval vein serum were significantly increased ($P<0.05$). Compared with III group, the content of GM in portal vein serum of weaner piglets in group IV was significantly decreased ($P<0.05$), the gene relative expressions of *SLC*7*A*1, *SLC*7*A*11 and *SLC*38*A*2 in jejunum were significantly increased ($P<0.05$). These findings suggest that with the average daily intake of α-GM content increase, the ADFI is decreased; the contents of α-GM, β-GM, and GM in carotid artery, mesenteric vein, and hepatic portal vein serum are increased by the dietary α-GM, β-GM and GM contents increase. When dietary α-GM, β-GM and GM increase, β-MN can decrease the content of GM in portal vein serum and increase the gene relative expression of *SLC*7*A*1, *SLC*7*A*11 and *SLC*38*A*2 in jejunum.

Key words: β-mannanase; galactomannan; soybean meal; amino acid transporter; biochemical indices; weaner piglets